

US Patent Application based on PCT/EP2005/002004

"Magnetic manipulation of biological samples"

5

Summary of DE 100 27 608

DE 100 27 608 discloses a device for charging a magnetic carrier 1 (see Fig. 1) with microparticles or nanoparticles coupled with biologically relevant substances. The surface of the carrier 1 has a plurality of receptacles 6 for accommodating the particles 2, which are moved to the receptacles 6 from a reservoir 3.

15 DE 100 27 608 represents technological background with regard to the handling of biological substances being bound to magnetic beads. A cell carrier having in particular a bottom element forming a stable support on a base surface as claimed in the above U.S. patent application is not disclosed in DE
20 100 27 608.



⑩ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ Patentschrift
⑩ DE 100 27 608 C 2

⑥ Int. Cl.⁷:
G 01 N 33/553

B 81 C 1/00
B 82 B 1/00
C 12 M 1/14
C 12 M 1/42
H 01 F 41/16

⑪ Aktenzeichen: 100 27 608.3-52
⑫ Anmeldetag: 6. 6. 2000
⑬ Offenlegungstag: 20. 12. 2001
⑭ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 9. 1. 2003

DE 100 27 608 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑬ Patentinhaber:

W3HM S.A., Luxembourg/Luxembourg, LU

⑭ Vertreter:

Patentanwaltskanzlei Viöl & Wieske, 66119
Saarbrücken

⑯ Erfinder:

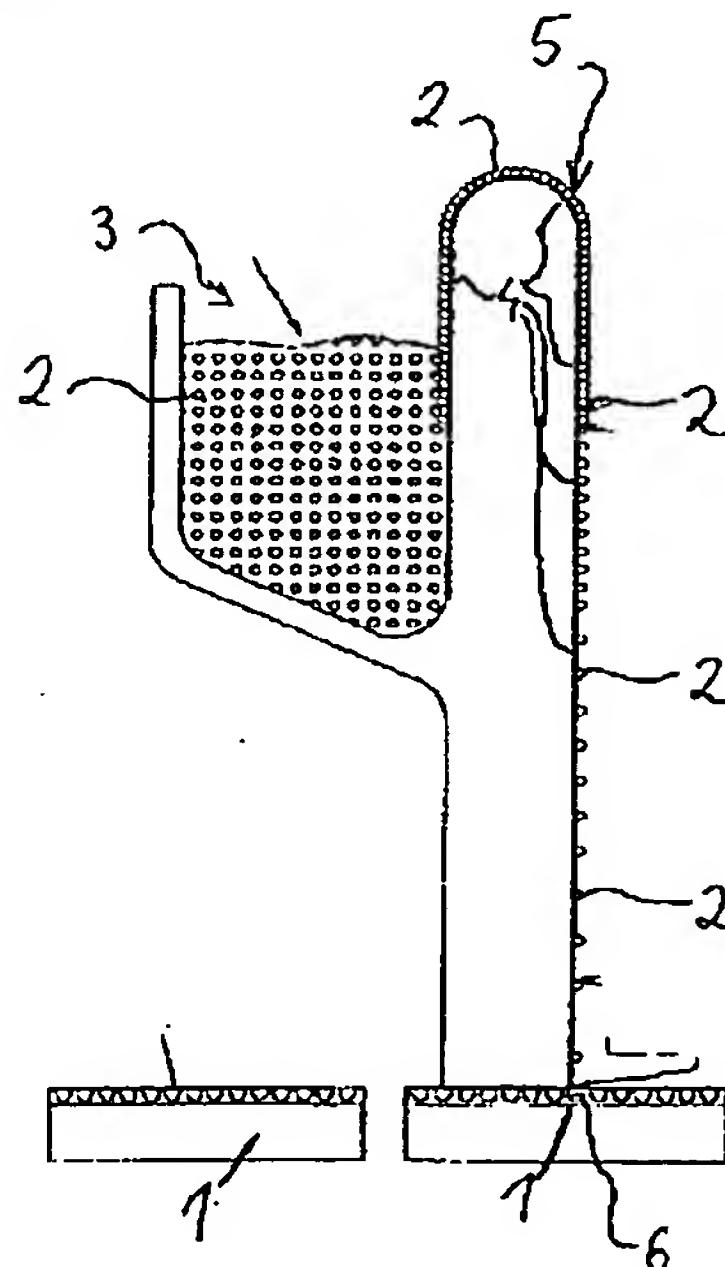
Walter, Hans-Peter, 66693 Mettlach, DE; Walter,
Hubert, Dipl.-Ing., 66693 Mettlach, DE

⑮ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE	34 07 253 C2
DE	30 18 586 A1
US	59 25 573 A
EP	03 39 623 A1
WO	99 61 881 A2

④ Vorrichtung zur Bestückung eines Trägers bzw. magnetischen Trägers zur Anlagerung von mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen

⑤ Vorrichtung zur Bestückung eines magnetischen Trägers (1, 301) oder eines Trägers (401, 501), an dessen Oberfläche ein Magnetfeld erzeugbar ist, mit mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen (2), die mit Nukleinsäuren, Proteinen, biochemischen Substanzen, Substanzen zur Anwendung in der medizinischen Diagnostik und/oder Substanzen zur Anwendung in der diagnostischen Analytik beladen sind, wobei die Oberfläche des magnetischen Trägers (1, 302) zumindest teilweise wenigstens eine Ausnehmung (6, 303) aufweist, die zur Aufnahme von mikro- oder nanopartikulären Teilchen (2) ausgebildet ist, wobei die Vorrichtung Ausgabedüsen für die mikro- oder nanopartikulären Teilchen (2) aufweist, die nebeneinander angeordnet sind (204), wobei die räumliche Anordnung der Ausgabedüsen mit der wenigstens einen Ausnehmung (6, 303) korrespondiert derart, dass die Vorrichtung über dem Träger (1, 301, 401, 501) so positionierbar ist, dass mikro- oder nanopartikuläre Teilchen (2) aus den Ausgabedüsen in die wenigstens eine Ausnehmung (6, 303) einbringbar sind, wobei die Teilchen (2) mittels eines Druckpulses aus jeweils einem Vorratsbehälter (202), der jeweils einer Ausgabedüse zugeordnet ist, über einen Versorgungskanal zu der jeweiligen Ausgabedüse beschleunigbar ist.



DE 100 27 608 C 2

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Bestückung eines Träger bzw. magnetischen Trägers zur Anlagerung von mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen gemäß Patentanspruch 1.

[0002] Unter Mikrochips im Sinne dieser Patentammlung versteht man Träger aus Glas oder anderen Materialien, die einen bis wenige Quadratzentimeter groß sind und auf denen bis über 10.000 verschiedene Substanzen, wie beispielsweise DNA-Fragmente, aufgebracht sein können zur Durchführung von Analysen, chemischen oder biochemischen Versuchen sowie zur medizinischen Diagnostik und Analytik. Es ist bisher bekannt, diese Träger, die beispielsweise aus Glas bestehen können, ein Mal zu bestücken und anschließend zu entsorgen. Mit einer Bestückung eines solchen Trägers sind eine oder – je nach der durchzuführenden Untersuchung – auch mehrere Untersuchungen durchführbar.

[0003] Aus der WO 99/61881 A1 ist es bekannt, magnetische Teilchen in einer Suspension vorzusehen, an denen sich andere Teilchen anlagern können. Durch ein von außen anlegbares Magnetfeld können diese Teilchen in der Suspension in bestimmten räumlichen Bereichen konzentriert werden. Weiterhin ist es möglich, die Teilchen durch ein in der Stärke veränderbares Magnetfeld in Bewegung zu versetzen. Dadurch kann der Wirkungsquerschnitt für eine Ablösung der angelagerten Teilchen durch die vorbei strömende Flüssigkeit vergrößert werden. Es ist also möglich, die Konzentration der ursprünglich an den magnetischen Teilchen angelagerten Teilchen in der Flüssigkeit durch das Magnetfeld zu verändern. Die Flüssigkeit wird dabei durch ein piezoelektrisches Stellelement ausgegeben. Durch dieses wird eine Stoßwelle in der Suspension erzeugt, durch die die Flüssigkeit entsprechend in Bewegung versetzt wird.

[0004] Aus der US-PS 5,925,573 ist es bekannt, unter Verwendung einer bestimmten Teilchensorte, die in der EP-A-339 623 beschrieben ist, eine Trennung der Teilchen einer Suspension, die bereits reagiert haben, von den anderen Teilchen vorzunehmen, indem sich die magnetischen Eigenschaften des Trägermaterials dadurch ändern, dass bei einer Reaktion dieses Materials ferromagnetisch wird. Durch Anlegen eines äußeren Magnetfeldes können diese Teilchen dann separiert werden.

[0005] Aus der DE 34 07 253 C2 ist es bekannt, Materialien auf eine insbesondere kreisförmige Scheibe aufzubringen. Die Materialien werden dabei auf die Scheibe aufgebracht, wobei die Scheibe gleichzeitig gedreht wird. Durch die wirkenden Zentrifugalkräfte werden überflüssige Teilchen, die nicht genügend Haltekraft aufweisen, von der Scheibe abgeschleudert. Es wird dabei beschrieben, wie die Drehzahl der Scheibe bei der Beschichtung variiert wird. In diesem Zusammenhang ist beschrieben, dass ein äußeres Magnetfeld anlegbar ist, wobei bei Anlegen des äußeren Magnetfeldes die Drehzahl der Scheibe verringert wird.

[0006] Aus der DB 30 18 586 A1 ist es bekannt, eine Schreibflüssigkeit auszugeben, wobei die Viskosität der Schreibflüssigkeit verändert werden kann, indem im Bereich der Austrittsdüse ein Magnetfeld anlegbar ist. Durch das Magnetfeld kann die Viskosität eingestellt werden. Durch die Veränderung der Viskosität kann die Austrittsmenge der Flüssigkeit eingestellt werden.

[0007] Mit der vorliegenden Erfindung soll eine Vorrichtung zur Bestückung eines Trägers vorgeschlagen werden, mit der der Bestückungsvorgang für die beschriebenen Anwendungsbereiche kostengünstiger und effizienter ist.

[0008] Diese Aufgabe wird erfahrungsgemäß durch eine Vorrichtung nach Anspruch 1 gelöst, wonach die Vorrich-

tung zur Bestückung eines magnetischen Trägers oder eines Trägers ausgestaltet ist, an dessen Oberfläche ein Magnetfeld erzeugbar ist. Diese Bestückung soll mit mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen erfolgen, die mit Nukleinsäuren, Proteinen, biochemischen Substanzen, Substanzen zur Anwendung in der medizinischen Diagnostik und/oder Substanzen zur Anwendung in der diagnostischen Analytik beladen sind, wobei die Oberfläche des magnetischen Trägers zumindest teilweise wenigstens eine Ausnehmung aufweist, die zur Aufnahme von mikro- oder nanopartikulären Teilchen ausgebildet ist. Dabei weist die Vorrichtung Ausgabedüsen für die mikro- oder nanopartikulären Teilchen auf, die nebeneinander angeordnet sind, wobei die räumliche Anordnung der Ausgabedüsen mit der wenigstens einen Ausnehmung korrespondiert derart, dass die Vorrichtung über dem Träger so positionierbar ist, dass mikro- oder nanopartikuläre Teilchen aus den Ausgabedüsen in die wenigstens eine Ausnehmung einbringbar sind, wobei die Teilchen mittels eines Druckpulses aus jeweils einem Vorratsbehälter, der jeweils einer Ausgabedüse zugeordnet ist, über einen Versorgungskanal zu der jeweiligen Ausgabedüse beschleunigbar sind.

[0009] Dadurch können vorteilhaft in einem Arbeitsgang mehrere Positionen dieses Trägers gleichzeitig bestückt werden. Durch den Druckpuls ist vorteilhaft ein nahezu gleichzeitiger Austritt der Teilchen aus den Ausgabedüsen erreichbar. Durch ein Versetzen des Trägers relativ zu den Ausgabedüsen kann eine vollständige Bestückung des Trägers in mehreren aufeinander folgenden Arbeitsgängen vorgenommen werden. Durch die Verwendung verschiedener Vorratsbehälter zu den einzelnen Ausgabedüsen können vorteilhaft auch verschiedene Teilchen in einem Arbeitsgang bestückt werden.

[0010] Bei der Ausgestaltung der Vorrichtung nach Anspruch 2 sind die mikro- oder nanopartikulären Teilchen weiterhin durch ein externes Magnetfeld von dem Vorratsbehälter in Richtung der Ausgabedüse beschleunigbar.

[0011] Vorteilhaft kann dadurch zusätzlich zu dem kurzzeitigen Druckpuls eine beschleunigende Kraft auf die Teilchen in Richtung der Ausgabedüsen erreicht werden.

[0012] Bei der Ausgestaltung der Vorrichtung nach Anspruch 3 laufen die Versorgungskanäle von den Ausgabedüsen zu den Vorratsbehältern räumlich auseinander.

[0013] Damit wird es möglich, hinreichend große Vorratsbehälter vorzusehen zu den einzelnen Ausgabedüsen, wobei die Ausgabedüsen hinreichend dicht beieinander liegen können.

[0014] Bei der Ausgestaltung der Vorrichtung nach Anspruch 4 ist die Vorrichtung zumindest im Bereich der Ausgabedüsen mit einer magnetwirkungsaufhebenden Beschichtung versehen ist.

[0015] Diese magnetwirkungsaufhebende Beschichtung kann beispielsweise aus einem μ -Metall bestehen. Vorteilhaft können dann magnetische Verbindungen durch die aus den Ausgabedüsen austretenden Teilchen durch die Versorgungskanäle bis hin zu den Vorratsbehältern vermieden werden.

[0016] Die wenigstens eine Ausnehmung des Trägers bzw. des magnetischen Trägers kann so realisiert sein, dass sich diese linienförmig über den Träger bzw. magnetischen Träger erstreckt. Ebenso können auch mehrere Ausnehmungen vorhanden sein, die dann im wesentlichen punktförmig ausgebildet sind. Die Ausnehmung kann beispielsweise so aussehen, dass sie sich schlangenlinienförmig als Schlitz über die Oberfläche des Trägers erstreckt. Ebenso können mehrere Ausnehmungen vorhanden sein, die als Löcher vorhanden sind, die an dem Ort angebracht sind, wo jeweils ein Teilchen angelagert werden soll. Die Größe dieser Löcher

entspricht dann in etwa der Größe der Teilchen. Der Bereich der Oberfläche des Trägers, in dem sich die wenigstens eine Ausnehmung befindet, kann sich über die vollständige Oberfläche oder nur über einen Teil der Oberfläche erstrecken. Der Träger kann auch eine Beschichtung aufweisen, in die die wenigstens eine Ausnehmung eingebracht ist. Eine derartige Beschichtung kann beispielsweise ein μ -Metall sein. Dieses Metall ist nicht magnetisch und auch nicht magnetisierbar. Die Ausnehmung geht dann so weit, dass dieses Metall in der Ausnehmung vollständig abgetragen wird. Dadurch entsteht lokal ein sehr gut definiertes Magnetfeld, wodurch die Teilchen entsprechend gut positioniert werden können.

[0017] Es ist also möglich, einen mehrfach bestückbaren Träger zu realisieren, bei dem dennoch eine große Dichte der mikro- oder nanopartikulären Teilchen erreichbar ist.

[0018] Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung ist in der Zeichnung dargestellt. Es zeigt dabei im einzelnen:

[0019] Fig. 1 eine Vorrichtung zur Durchführung eines Verfahrens zur Bestückung eines magnetischen Trägers,

[0020] Fig. 2 ein Einzelement der Vorrichtung,

[0021] Fig. 3 einen magnetischen Träger und

[0022] Fig. 4 und 5 einen Träger.

[0023] Fig. 1 zeigt eine Vorrichtung zur Durchführung eines Verfahrens zur Bestückung eines magnetischen Trägers 1 mit mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen 2.

[0024] Diese mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen 2 befinden sich in einem Vorratsbehälter 3. Weiterhin sind Elektromagnete 4 entlang einer Bahn 5 angeordnet. Durch eine Ansteuerung der Elektromagnete 4 können die mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 aus dem Vorratsbehälter 3 heraus beschleunigt werden. Durch diese Beschleunigung entlang der Bahn 5 verringert sich die Dichte der mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen zum Ende der Bahn 5 hin. Der magnetische Träger ist so positioniert, dass die Ausnehmung 6, die das entsprechende mikro- oder nanopartikuläre Teilchen 2 aufnehmen soll, sich in Geradeausrichtung der Bewegungsrichtung des mikro- oder nanopartikulären Teilchens 2 beim Verlassen der Bahn 5 befindet. Indem der Träger 1 magnetisch ist, wird das Teilchen 2 entsprechend angezogen und in der dafür vorgesehenen Ausnehmung 6 in der Oberfläche des magnetischen Trägers 1 angelagert.

[0025] Indem die mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 am Ende der Bahn 5 eine hinreichend große Geschwindigkeit haben, kann der Luftspalt zum magnetischen Träger 1 hin überbrückt werden.

[0026] Eine geeignete Vorrichtung kann gemäß der Darstellung der Fig. 2 so ausgeführt werden, dass durch eine Aneinanderreihung vieler Bestückungslinien auf einer Bestückungsbrücke mehrere mikro- oder nanopartikuläre Teilchen 2 gleichzeitig auf den magnetischen Träger 1 gebracht werden können.

[0027] Um eine entsprechende Vielzahl der mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 auf dem magnetischen Träger 1 anordnen zu können, wird dieser während der Bestückung entsprechend fortbewegt. Im Ausführungsbeispiel der Fig. 2 ist dies durch die Pfeilrichtung 201 dargestellt.

[0028] Im Ausführungsbeispiel der Fig. 2 sind verschiedene Vorratsbehälter 202 zu sehen, die jeweils Versorgungskanäle 203 aufweisen, entlang derer die mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 bahnförmig beschleunigbar sind. Diese Versorgungskanäle 203 münden in eine Ausgabelinie 204, die durch mehrere Ausgabedüsen gebildet wird, durch die die Teilchen ausgegeben werden. Von diesen Ausgabedüsen aus werden die mikro- oder nanopartikulären Teil-

chen 2 auf den magnetischen Träger 1 aufgebracht.

[0029] Bei entsprechender Auslegung einer solchen in Fig. 2 dargestellten Einheit ist es möglich, mit einem einzigen Typ diesen als Standard einzusetzen und die einzelnen 5 Plätze für die mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 nacheinander zu belegen.

[0030] Es ist auch möglich, die in Fig. 2 gezeigte Vorrichtung so auszustalten, dass diese an ihrer Unterseite anstelle einer Ausgabelinie 204 einen Vielfachdruckkopf aufweist. Damit wird es möglich, in effizienter Weise in einem Arbeitsschritt eine hohe Anzahl von verschiedenen mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen, die mit Nukleinsäuren, Proteinen, biochemischen Substanzen, Substanzen zur Anwendung in der medizinischen Diagnostik und/oder Substanzen zur Anwendung in der diagnostischen Analytik beladen sind, auf die Oberfläche eines magnetischen Trägers aufzubringen.

[0031] Mit der Vorrichtung werden mit einem Druckimpuls vorzugsweise mehrere tausend Plätze auf dem magnetischen Träger belegt. Dazu weist die Vorrichtung miniaturisierte Piezodruckdüsen als Ausgabedüsen auf. Diese Ausgabedüsen sind sehr dicht nebeneinander und beispielsweise auch mehrreihig angeordnet. Um bei der hohen Packungsdichte einen ausreichend großen Vorratsbehälter 202 für jede Ausgabedüse zu erhalten, können die Versorgungskanäle 203 von der Ausgabedüse zum Vorratsbehälter 202 räumlich auseinander laufen. Dies kann beispielsweise erreicht werden durch viele übereinander geschichtete dünne Lochplatten, deren Lochabstände von der Platte der Ausgabedüsen zur Platte der Vorratsbehälter 202 ständig zweidimensional zunehmen oder auch durch Glaskapillare mit einer ähnlichen Anordnung.

[0032] Dabei ist zu beachten, dass die beladenen magnetischen Teilchen nach Möglichkeit beim Druckvorgang 35 keine Magnetbrücke zwischen dem Träger und dem Versorgungskanal 203 und damit auch dem Vorratsbehälter 202 bilden dürfen. Zur Abschirmung der magnetischen Wirkung des Trägers kann deshalb zumindest die Unterseite des Druckkopfes mit einer magnetwirkungsaufhebenden Beschichtung versehen sein, die beispielsweise aus einem μ -Metall bestehen kann.

[0033] Wenn mehrere gleichartige Druckköpfe verwendet werden, die jedoch zum Druckbild des ersten bzw. vorhergehenden Druckbildes versetzt angeordnet sind, kann eine sehr 45 hohe Punktdichte auf dem Träger erreicht werden. Es ist möglich, ca. 100.000 Punkte mit verschiedenen Substanzen auf einer Fläche von etwa 30 mm \times 30 mm zu bestücken.

[0034] Durch die Magnetkraft werden die aufgebrachten Mikro- oder Nanopartikel sofort auf dem Träger fixiert.

[0035] Fig. 3 zeigt einen magnetischen Träger 1, der aus einem Permanentmagneten 301 besteht. Auf diesen Permanentmagneten 301 ist in dem gezeigten Ausführungsbeispiel eine Beschichtung 302 aufgebracht, in die beispielsweise mittels eines Lasers Linien als Ausnehmungen 303 eingebracht sind. Diese Ausnehmungen 303 sind vorteilhafter 55 Weise so dimensioniert, dass diese zur Aufnahme der mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 geeignet sind. Anstelle dieser Linien können auch punktförmige Löcher vorgesehen werden, in die bei der Bestückung die Teilchen eingebracht werden. Ebenso kann auch ein magnetischer Träger 60 bestückt werden, der keine Beschichtung aufweist, sondern bei dem die wenigstens eine Ausnehmung unmittelbar in das Material des Trägers selbst eingebracht ist.

[0036] Nachdem eine Untersuchung bzw. ein Versuch durchgeführt wurde, können die alten mikro- oder nanopartikulären Teilchen von diesem magnetischen Träger entfernt werden, indem ein stärkerer Magnet in die Nähe dieses Trägers gehalten wird. Die Teilchen werden dadurch von dem

magnetischen Träger gelöst, so dass dieser dann neu bestückt werden kann.

[0037] Gemäß der Ausführungsform nach Fig. 4 kann der Träger 401 auch so ausgebildet sein, dass in die Oberfläche dieses Trägers 401 die Ausnehmungen 403 eingebracht sind. Weiterhin kann dieser Träger 401 so ausgebildet sein, dass ein Permanentmagnet 402 so an diesen Träger 401 angekoppelbar ist, so dass an der Oberfläche des Trägers 401 ein Magnetfeld entsteht, das bewirkt, dass die mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 auf der Oberfläche gehalten werden.

[0038] Die mikro- oder nanopartikulären Teilchen lassen sich dann einfach entfernen, indem der Permanentmagnet 402 vom Träger 401 entfernt wird. Vor einer erneuten Bestückung wird der Permanentmagnet 402 wieder angekoppelt.

[0039] Alternativ zur Ausführungsform nach Fig. 4 kann der Träger gemäß Fig. 5 auch so ausgebildet sein, dass die Ausnehmungen 502 in die Oberfläche des Trägers 501 eingebracht sind. Weiterhin sind in einer Schicht 503 elektrische Bauteile 504 vorhanden, die insbesondere als Miniaturspulen ausgebildet sein können, mit denen ein Magnetfeld erzeugbar ist. Das Magnetfeld kann dann zu einer Entfernung der mikro- oder nanopartikulären Teilchen 2 deaktiviert werden, indem der Stromfluss abgeschaltet wird. Vor einer erneuten Bestückung kann das Magnetfeld dann durch ein Wiedereinschalten des Stroms vorteilhaft wieder aktiviert werden.

[0040] Anstelle eines magnetischen Trägers kann mit der Vorrichtung nach den Fig. 1 und 2 also auch ein Träger entsprechend den Prinzipien der Darstellungen der Fig. 4 oder 5 bestückt werden.

räumlich auseinander laufen.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zumindest im Bereich der Ausgabedüsen mit einer magnetwirkungsaufhebenden Beschichtung versehen ist.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

Patentansprüche

35

1. Vorrichtung zur Bestückung eines magnetischen Trägers (1, 301) oder eines Trägers (401, 501), an dessen Oberfläche ein Magnetfeld erzeugbar ist, mit mikro- oder nanopartikulären, magnetisch wechselwirkenden Teilchen (2), die mit Nukleinsäuren, Proteinen, biochemischen Substanzen, Substanzen zur Anwendung in der medizinischen Diagnostik und/oder Substanzen zur Anwendung in der diagnostischen Analytik beladen sind, wobei die Oberfläche des magnetischen Trägers (1, 302) zumindest teilweise wenigstens eine Ausnehmung (6, 303) aufweist, die zur Aufnahme von mikro- oder nanopartikulären Teilchen (2) ausgebildet ist, wobei die Vorrichtung Ausgabedüsen für die mikro- oder nanopartikulären Teilchen (2) aufweist, die nebeneinander angeordnet sind (204), wobei die räumliche Anordnung der Ausgabedüsen mit der wenigstens einen Ausnehmung (6, 303) korrespondiert derart, dass die Vorrichtung über dem Träger (1, 301, 401, 501) so positionierbar ist, dass mikro- oder nanopartikuläre Teilchen (2) aus den Ausgabedüsen in die wenigstens eine Ausnehmung (6, 303) einbringbar sind, wobei die Teilchen (2) mittels eines Druckpulses aus jeweils einem Vorratsbehälter (202), der jeweils einer Ausgabedüse zugeordnet ist, über einen Versorgungskanal zu der jeweiligen Ausgabedüse beschleunigbar ist.

60

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die mikro- oder nanopartikulären Teilchen weiterhin durch ein externes Magnetfeld von dem Vorratsbehälter (202) in Richtung der Ausgabedüse beschleunigbar sind.

65

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Versorgungskanäle (203) von den Ausgabedüsen zu den Vorratsbehältern (202)

- Leerseite -

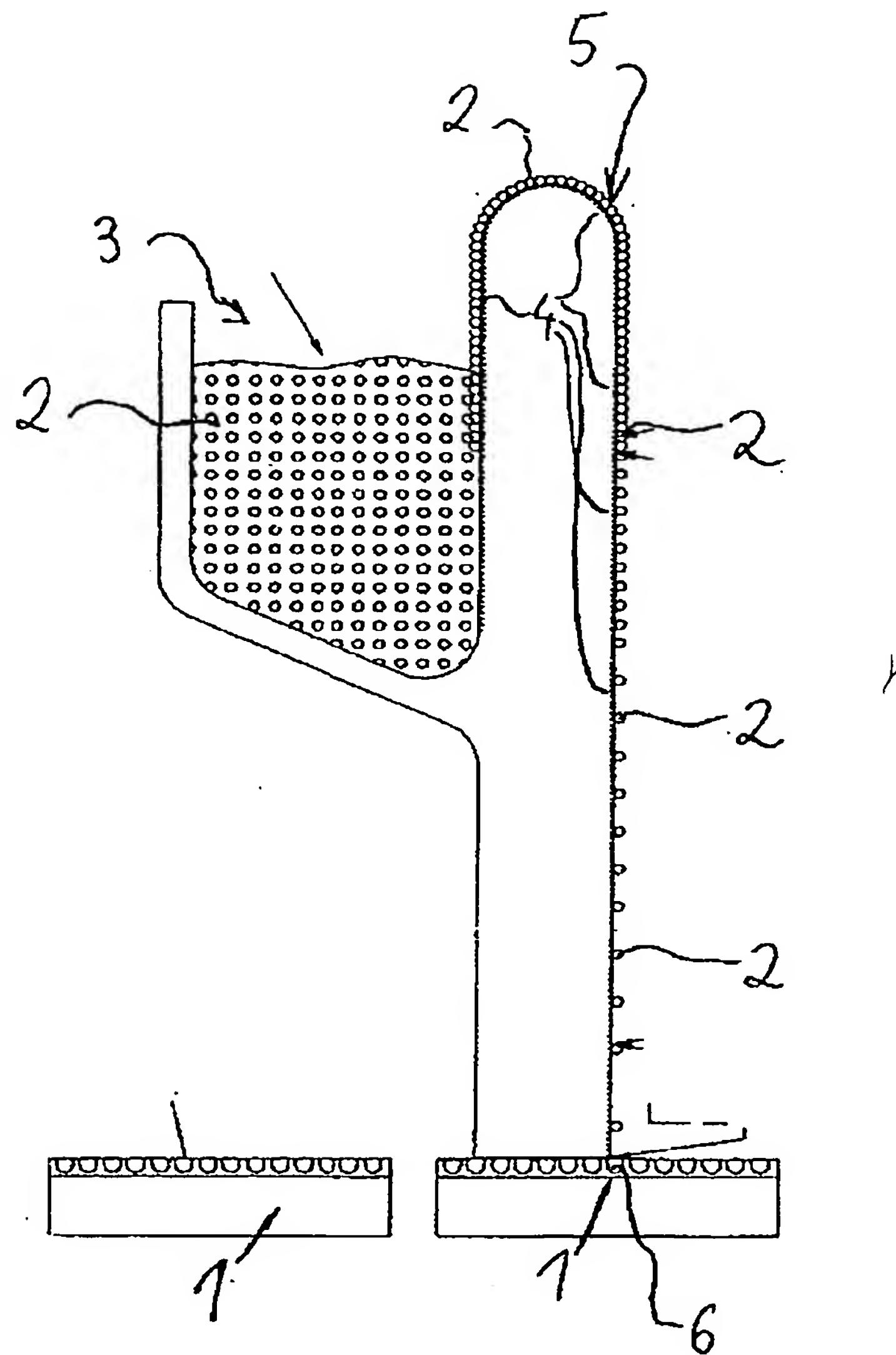


Fig. 1

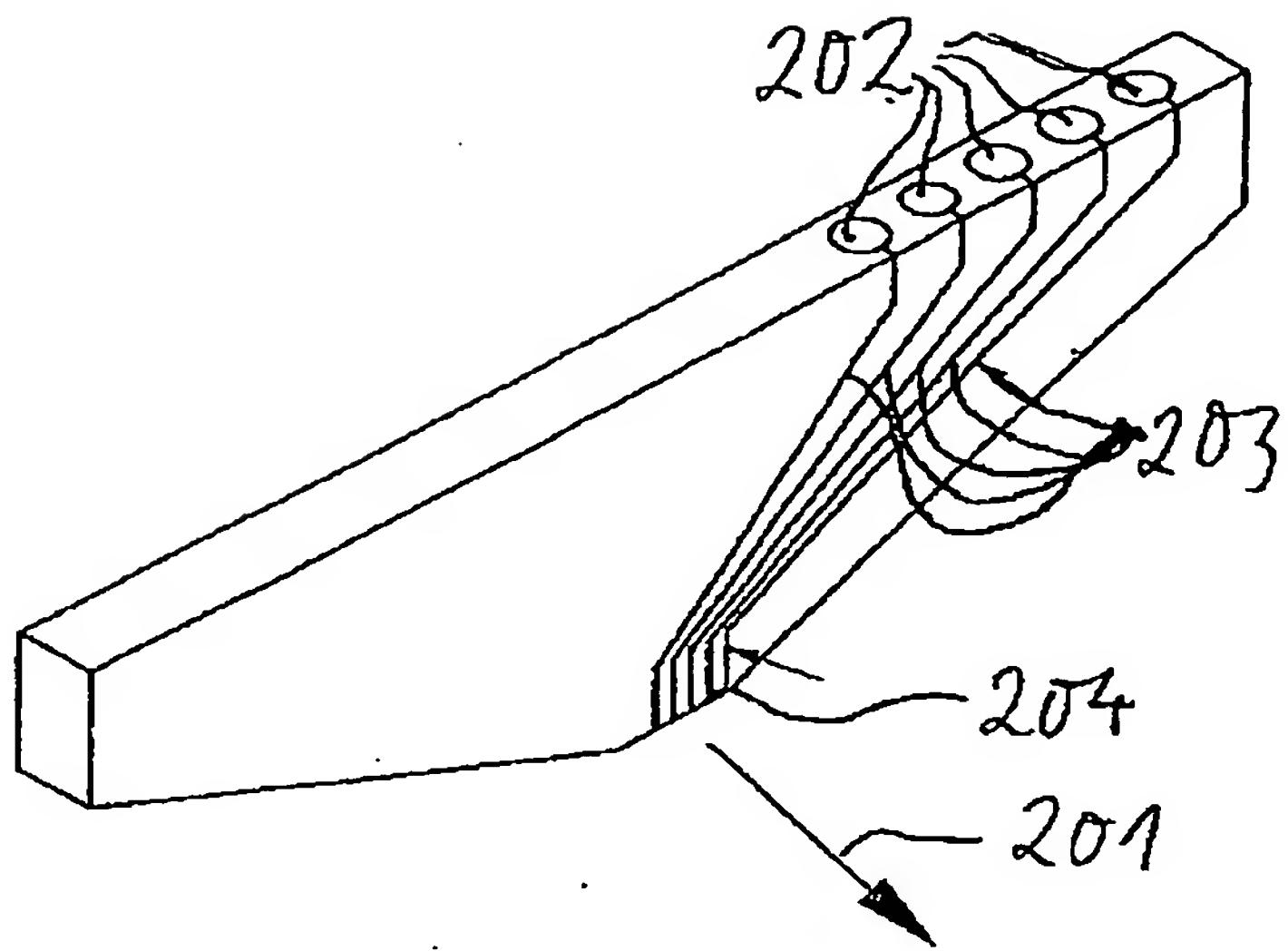


Fig. 2

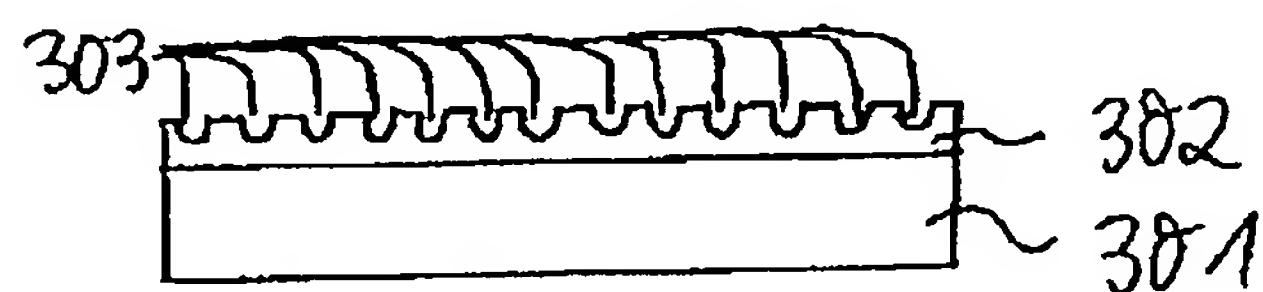


Fig. 3

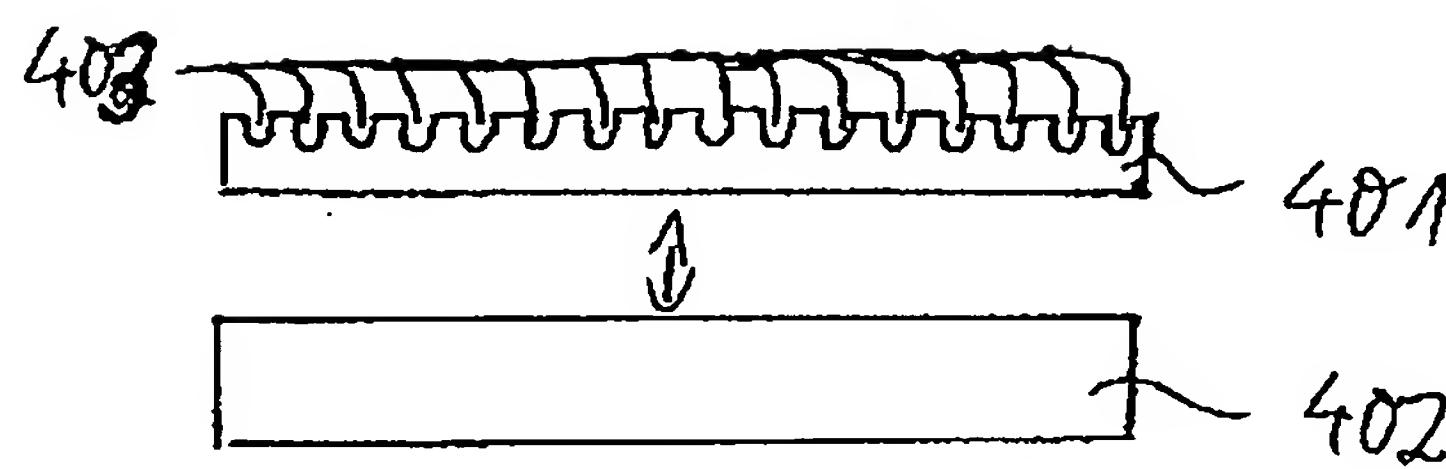


Fig. 4

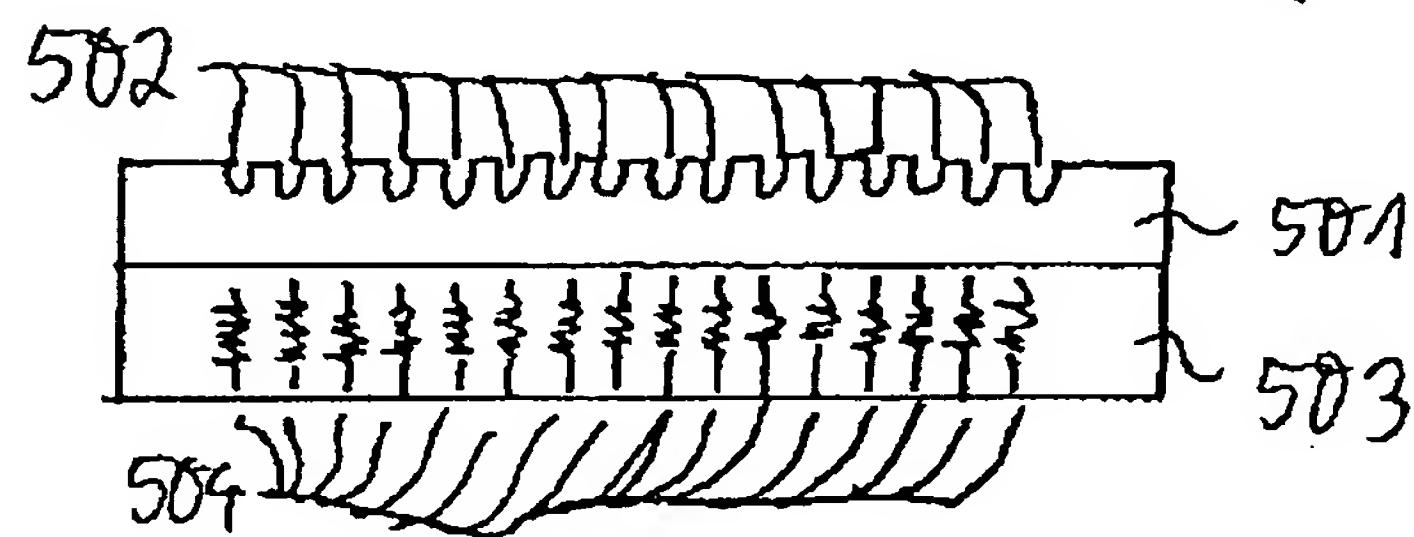


Fig. 5